

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/CN04/001312

International filing date: 18 November 2004 (18.11.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: CN
Number: 200310118481.8
Filing date: 18 December 2003 (18.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 14 February 2005 (14.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日： 2003.12.18

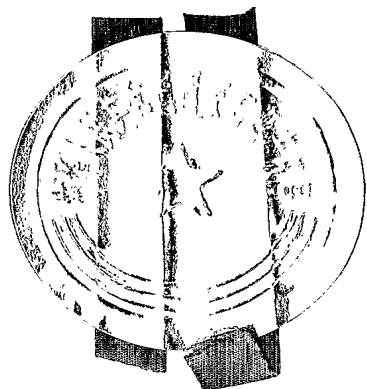
申 请 号： 2003101184818

申 请 类 别： 发明

发明创造名称： 用于预防或治疗阳痿和性冷淡的新吡唑并嘧啶类化合物

申 请 人： 中国人民解放军军事医学科学院放射医学研究所

发明人或设计人： 李庶心、任建平、赵砚瑾、吕秋军、郭金华



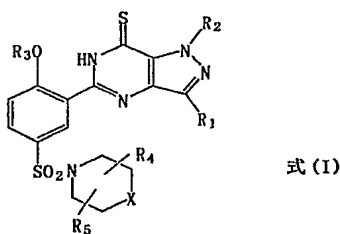
中华人民共和国
国家知识产权局局长

王 崇 川

2004 年 12 月 8 日

权 利 要 求 书

1、式(I)化合物或式(I)化合物的药学上可接受的盐或溶剂合物



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 为 C_1 - C_6 烷基或 C_2 - C_6 链烯基, 并可被 C_1 - C_6 烷氧基, C_3 - C_6 环烷氧基, C_6 - C_{10} 芳基, C_1 - C_6 烷酰基取代;

R_4 为 C_1 - C_6 烷基或 C_2 - C_6 烷链烯基, 并可被 C_1 - C_6 烷氧基, C_3 - C_6 环烷基氧基, C_6 - C_{10} 芳基, C_1 - C_6 烷酰基取代;

R_5 为氢、 C_1 - C_6 烷基或 C_2 - C_6 烷链烯基, 并可被 C_1 - C_6 烷氧基, C_3 - C_6 环烷基氧基, C_6 - C_{10} 芳基, C_1 - C_6 烷酰基取代;

X 为 N R_6 ; R_6 为氢, C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 链烯基、 C_3 - C_8 环烷基、并可被羟基或 C_1 - C_{10} 烷氧基取代。

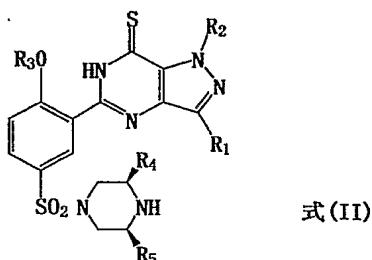
2、根据权利要求1所述化合物的盐, 其特征在于所述式(I)化合物的盐为其有机酸盐。

3、根据权利要求2所述化合物的盐, 其特征在于所述式(I)化合物有机酸盐为枸橼酸盐、富马酸盐、草酸盐、苹果酸盐、乳酸盐、樟脑磺酸盐、对甲苯磺酸盐、甲磺酸盐。

4、根据权利要求1所述化合物的盐, 其特征在于所述式(I)化合物的盐为其无机酸盐。

5、根据权利要求4所述化合物的盐, 其特征在于所述式(I)化合物的盐为盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐。

6、根据权利要求1所述化合物, 其特征在于具有式(II)的结构



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 如权利要求1所述

7、根据权利要求6所述化合物, 其特征在于所述式(II)化合物为

5-[2-甲氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二

5

氢-7H -吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮;

5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H -吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮;

5-[2-丙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H -吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮;

5-[2-甲氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H -吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮;

5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H -吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮或

5-[2-丙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H -吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮。

8、一种预防或治疗阳痿的药物组合物，其特征在于含有效量的作为活性成分的式(I)化合物或其可药用盐或溶剂合物和可药用载体。

9、一种预防或治疗性冷淡的药物组合物，其特征在于含有效量的作为活性成分的式(I)化合物或其可药用盐或溶剂合物和可药用载体。

说明书

用于预防或治疗阳痿和性冷淡的新吡唑并嘧啶类化合物

技术领域

本发明涉及及一种化合物，具体地说涉及一种用于预防或治疗阳痿和性冷淡的新吡唑并嘧啶类化合物。

背景技术

阳痿可以定为雄性缺乏交配能力，包括阴茎不能勃起或射精，或二者兼而有之。其发病率随年龄增加，据报道 50 岁以前的男性人口中占 2-7%，在 55 至 80 岁之间则占 18-75%。例如，美国据估计有高达 1 千万的阳痿患者，其中多数是生理上而不是精神性问题。

阴茎勃起涉及阴茎海绵体的平滑肌舒张，性刺激中，一氧化氮从阴茎海绵体的神经末梢和内皮细胞释放。一氧化氮激活鸟苷酸环化酶，导致海绵体平滑肌细胞内环鸟嘌呤核苷单磷酸 (cGMP) 合成增加，cGMP 引起平滑肌舒张，使进入阴茎的血流增加，导致阴茎勃起。cGMP 的组织浓度通过磷酸二酯酶 (PDEs) 调节。在阴茎海绵体中最丰富的磷酸二酯酶是 cGMP 特异性的磷酸二酯酶 V (PDE V)，PDE V 的抑制能增加 cGMP 的水平并加强勃起功能。

现有治疗阳痿的药物有吩妥拉明，氯胺酮和前列腺素 E1，其中一些药物属于神经兴奋性药物，存在成瘾性等问题。本发明的化合物是环状鸟嘌呤核苷 3', 5' -单磷酸磷酸二酯酶 (cGMP PDEs) 的强抑制剂，而对环状腺嘌呤核苷 3', 5' -单磷酸磷酸二酯酶 (cAMP PDEs) 抑制作用弱，这种选择性磷酸二酯酶抑制剂可以作为预防或治疗阳痿的药物。

西地那非 (Sildenafil) 是一种选择性磷酸二酯酶抑制剂，专利公开说明书 CN 1057464A 中公开了该化合物及其制备方法和该化合物用于治疗心血管疾病的用途；CN 1124926A 中公开了将该化合物用于治疗心血管疾病的用途；CN 1124926A 中公开了将该化合物用于制备治疗雄性动物勃起功能障碍药物的用途；CN 1168376A 中公开了一种制备西地那非的新方法。尽管西地那非对男性勃起功能障碍的治疗具有良好的效果，但该化合物剂量大 (50mg/次或 100mg/次)，具有较明显的副作用如头痛、头晕、蓝视、血压降低，甚至严重心血管副作用。

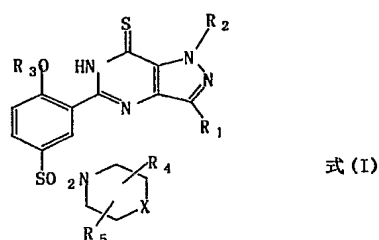
CN 1393444A 公开了一类化合物：5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3d]嘧啶-7-酮化合物，较西地那非活性高 (30mg/d)、毒性低，LD₅₀ 为 772.5-1052.1mg/kg。专利 (申请号：2003101016916) 公开了一类化合物 5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并嘧啶-7-酮同样较西地那非具有更高的活性。实验取健康小鼠雌雄各半，口服受试药 30mg/kg、15mg/kg 和对照药西地那非 50mg/kg 后 2 小时内，雄性小鼠对雌性小鼠的肥背次数分别为 (53 次、43 次、19 次)，爬背发生率为 (62.5%、

56.6%、50%)，与空白对照组(3次、12.6%)比较有非常显著的差异($P < 0.01$)，初步急性毒性试验表明受试药 LD_{50} 大于 2000mg/kg，明显高于西地那非(LD_{50} 为 635mg/kg)，但狗一般药实验证明该药能明显降低舒张压，这提示临床使用该药将引起血压降低明显副作用，这些副作用与十多个磷酸二酶的同工酶有关，主要是与受试药对存在于眼睛磷酸二酯酶VI及心脏的磷酸二酯酶I、III等的选择性低有关。

发明内容

为了克服现有防治阳痿药物心血管副作用大的问题，本发明公开一种对磷酸二酯酶V具有较高选择性的吡唑并嘧啶硫酮类衍生物。

式(I)化合物或式(I)化合物的盐或溶剂合物



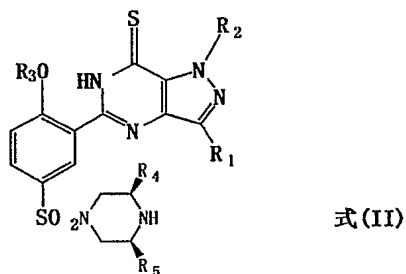
R_1 、 R_2 、 R_3 为 C_1 - C_6 烷基或 C_2 - C_6 烷链烯基，并可被 C_1 - C_6 烷氧基， C_3 - C_6 环烷基氧基， C_6 - C_{10} 芳基， C_1 - C_6 烷酰基取代；

R_4 为 C_1 - C_6 烷基或 C_2 - C_6 烷链烯基，并可被 C_1 - C_6 烷氧基， C_3 - C_6 环烷基氧基， C_6 - C_{10} 芳基， C_1 - C_6 烷酰基取代；

R_5 为氢、 C_1 - C_6 烷基或 C_2 - C_6 烷链烯基，并可被 C_1 - C_6 烷氧基， C_3 - C_6 环烷基氧基， C_6 - C_{10} 芳基， C_1 - C_6 烷酰基取代；

X 为 N R_6 ； R_6 为氢， C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_6 链烯基、 C_3 - C_8 环烷基、并可被羟基或 C_1 - C_{10} 烷氧基取代。

本发明所优选化合物具有如下式(II)所示的结构：



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 为 C_1 - C_6 烷基； R_4 、 R_5 为 C_1 - C_6 烷基。

优选的式(II)化合物例子为：

5-[2-甲氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮；

5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮;

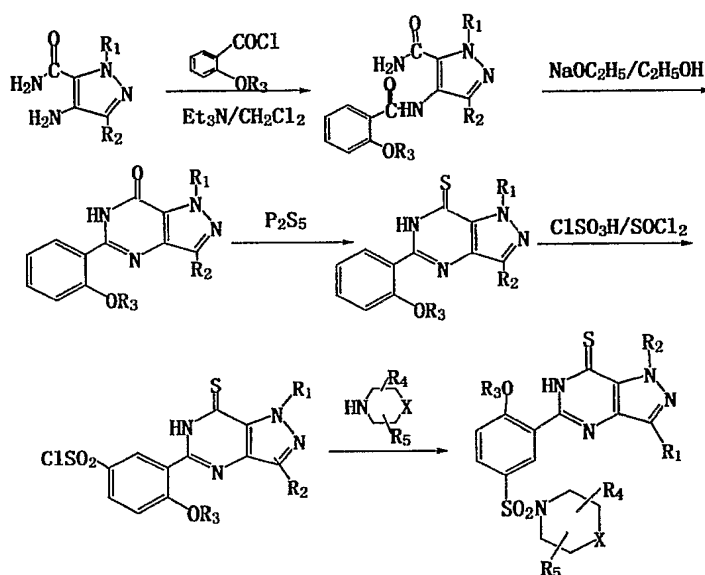
5-[2-丙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮;

5-[2-甲氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮;

5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮或

5-[2-丙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮。

本发明化合物的合成参考文献, 按下列合成路线制备:



式中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 如权利要求 1 所述。

本发明化合物的起始原料参考 EP463756 公开的方法合成。

本发明化合物可形成盐, 这些盐的性质没有特殊限制, 只有当它们作治疗用途时, 是药学上可接受的。当它们作非治疗用途时, 例如作为制备其它更具活性的化合物的中间体上, 甚至连一限制也没有。本发明化合物含有碱性基团可与酸成盐。这类酸加成盐的例子包括: 与无机酸, 尤其是氢卤酸(如氢氟酸、氢溴酸、氢碘酸、氢氯酸), 硝酸, 碳酸, 硫酸或磷酸成的盐; 与低级烷基磺酸, 如甲磺酸, 三氟甲磺酸形成的盐; 与芳基磺酸, 如苯磺酸或对甲苯磺酸形成的盐; 与有机羧酸, 如乙酸, 富马酸, 酒石酸, 草酸, 马来酸, 苹果酸, 琥珀酸或柠檬酸形成的盐; 与氨基酸, 如谷氨酸或天冬氨酸形成的盐。

本发明化合物可如本专业公知的那样，通过普通手段，用酸来处理，转化成药学上可接受的盐。

此外，在上述药物中还可以含有一种或多种药学上可接受的载体。所述载体包括药学领域的常规稀释剂，赋形剂，填充剂，粘合剂，湿润剂，崩解剂，吸收促进剂，表面活性剂，吸附载体，润滑剂等，必要时还可以加入香味剂，甜味剂等。

本发明药物可以制成片剂，粉剂，粒剂，胶囊、口服液及注射用药等多种形式。上述各剂型的药物均可以按照药学领域的常规方法制备。这类化合物可以作为防治阳痿的药物，具有选择性高，作用时间长，副反应小的优点，且不会引起血压降低副反应，具有广阔的市场前景。

具体实施方式

实施例 1、5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮(化合物(1))

A、4-(2-乙氧基苯甲酰胺基)-1-乙基-3-正丙基吡唑-5-甲酰胺

在 500ml 三颈圆底烧瓶中，在 N_2 保护下，加入 10g 1-乙基-3-正丙基-4-氨基吡唑-5-甲酰胺 [1H NMR ($DMSO-d_6$) (ppm), δ 0.89 (t, 3H), δ 1.18 (t, 3H), δ 1.55 (m, 2H), δ 2.44 (t, 2H), δ 3.98 (s, 2H), δ 4.30 (q, 2H), δ 7.49 (br, 2H)], 250ml 干燥二氯甲烷溶解，10ml 三乙胺，冰浴冷却至 $5^\circ C$ 以下，滴加 11.3g 邻乙氧基苯甲酰氯，控制滴加速度，使内温不超过 $5^\circ C$ ，加毕，继续搅拌反应 3h。室温放置过夜，薄层层析(氯仿/乙酸乙酯/甲醇(5: 5: 1))表明反应完全。加水洗涤(20ml \times 3)，碳酸钠水溶液洗 2 次，水洗 1 次，干燥，浓缩，用正丙醇重结晶得 13.0g，产率 74.0%，m. p. $136-38^\circ C$ ，MS (FAB) 345 (M+1)。

B、5-(2-乙氧基苯基)-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮

钠 1.0g 加入 75ml 无水乙醇中，钠分解完毕后，加入步骤(A)原料 8.0g，回流 4-5h，薄层层析(氯仿/甲醇(10: 1))示反应完全，浓缩除溶剂，冷却后加浓盐酸即析出固体，过滤，水洗，晾干，甲醇重结晶得 6.5 g，产率 85.7%，m. p. $114-15^\circ C$ ，MS (FAB) 327 (M+1)， 1H NMR ($DMSO-d_6$) (ppm), δ 0.94 (t, 3H), δ 1.34 (t, 3H), δ 1.40 (t, 3H), δ 1.75 (m, 2H), δ 2.79 (t, 2H), δ 4.14 (q, 2H), δ 4.53 (q, 2H), δ 7.06 (t, 1H), δ 7.15 (d, 1H), δ 7.46 (m, 1H), δ 7.68 (m, 1H)。

C、5-(2-乙氧基苯基)-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮

在 100ml 三颈圆底烧瓶中，加步骤(B)原料 3.5g，甲苯 30ml 溶解，五硫化二磷 1.0g，回流 2 小时，薄层层析(展开剂: 氯仿/甲醇 100: 1)示反应完全，减压除甲苯，

冷却至室温后加氯仿溶解, 2N NaOH 溶解洗涤, 水洗 2 次, 有机层干燥 (Na_2SO_4), 浓缩, 甲醇重结晶得黄色固体 3.1g, 产率: 84.4%, m. p. 130-131°C. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) (ppm), δ 0.94 (t, 3H), δ 1.39 (t, 3H), δ 1.40 (t, 3H), δ 1.77 (q, 2H), δ 2.84 (t, 2H), δ 4.19 (q, 2H), δ 4.95 (q, 2H), δ 7.11 (t, 1H), δ 7.20 (d, 1H), δ 7.53 (t, 1H), δ 7.83 (d, 1H), δ 13.31 (s, 1H). MS (FAB) 343 (M+1).

D、5-(5-氯磺酰基-2-乙氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮

在 100ml 三颈圆底烧瓶中, 电磁搅拌加入 5ml 氯磺酸, 冰浴冷却至 10°C; 分批加入 3.0g 步骤(B)产物, 控制加入速度, 使内温不超过 30°C, 加毕, 室温反应 7 小时, 然后加入 5.0ml 二氯亚砷, 反应混合物滴入至碎冰中即有黄色固体生成, 氯仿萃取, 水洗 (40ml \times 2), 干燥 (MgSO_4), 浓缩得 3.3g, 产率 84.5%.

E、5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-乙基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮 (化合物(1))

1.2g 顺式-2, 6-二甲基哌嗪溶于氯仿 5ml 中, 冰浴冷却下, 滴加 (D) 步反应产物磺酰氯 3.8g 在 5ml 氯仿溶液, 反应完全后, Na_2CO_3 水溶液洗涤, 水洗, 干燥 (Na_2SO_4), 乙酸乙酯重结晶得黄色固体 3.2g, 产率 81.2%. m. p. 202-203°C, MS (FAB) 519.2 (M+1), ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) (ppm), δ 0.92-0.96 (m, 9H), δ 1.34-1.40 (m, 6H), δ 1.72-1.78 (m, 4H), δ 2.75-2.86 (m, 4H), δ 3.47 (d, 2H), δ 4.23 (q, 2H), δ 4.96 (q, 2H), δ 7.39 (d, 1H), δ 7.89 (q, 1H), δ 7.94 (d, 1H).

实施例 2、5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮 (化合物(2))

A、4-(2-乙氧基苯甲酰胺基)-1-甲基-3-正丙基吡唑-5-甲酰胺

参考例 1 步骤 A 合成. m. p. 155.5-56.5°C MS (FAB) 331 (M+1).

B、5-(2-乙氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-酮

参考例 1 步骤 B 合成. m. p. 147-149°C 元素分析 $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2$ 计算值: C 65.38%, H 6.41%, N 17.95%, 测定值: C 65.47%, H 6.28%, N 17.74%. MS (FAB) 313 (M+1).

C、5-(2-乙氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮

参考例 1 步骤 C 合成. m. p. 156-158°C. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) (ppm), δ 0.94 (t, 3H), δ 1.39 (t, 3H), δ 1.77 (q, 2H), δ 2.83 (t, 2H), δ 4.19 (q, 2H), δ 4.44 (s, 3H), δ

7.11 (t, 1H), δ 7.19 (d, 1H), δ 7.53 (t, 1H), δ 7.83 (d, 1H), δ 13.29 (s, 1H)。MS (FAB) 329 (M+1)。

D、5-(5-氯磺酰基-2-乙氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-酮

参考例 1 步骤 D 合成。

E、5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮(化合物(2))

在 100ml 三颈圆底烧瓶中, 1.5g 顺式-2, 6-二甲基哌嗪溶于氯仿中, 冰浴冷却下加入 3.0g 步骤(D)产物。加毕继续搅拌 1 小时, TLC(氯仿/乙酸乙酯/甲醇 5: 5: 1)示反应完毕后, 加碳酸钠水溶液洗涤, 水洗 1 次, 干燥, 浓缩, 乙酸乙酯重结晶得浅黄色固体 2.8g, 产率 79.0%。m. p. 196-199℃ MS (FAB) 505 (M+1)。¹HNMR (DMSO-d₆) (ppm), δ 0.92-0.96 (m, 9H), δ 1.36 (t, 3H), δ 1.71-1.79 (m, 4H), δ 2.74-2.78 (m, 2H), δ 2.82 (t, 2H), δ 3.47 (m, 2H), δ 4.24 (q, 2H), δ 4.45 (s, 3H), δ 7.38 (d, 1H), δ 7.84 (dd, 1H), δ 7.94 (d, 1H)。元素分析为 C₂₃H₃₂N₆O₃S₂。

F、5-[2-乙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮·枸橼酸盐

将 0.25g 枸橼酸单水合物溶于 5ml 甲醇中, 快速搅拌下, 加入 0.5g 步骤 E 原料, 搅拌 1h, 冷却结晶, 过滤, 洗涤, 得黄色固体 0.6g, m. p. 200-202℃。

实施例 3、5-[2-甲氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮(化合物(3))

A、4-(2-甲氧基苯甲酰胺基)-1-甲基-3-正丙基吡唑-5-甲酰胺

在 500ml 三颈圆底烧瓶中, 在 N₂ 保护下, 加入 40g 1-甲基-3-正丙基-4-氨基吡唑-5-甲酰胺, 250ml 干燥二氯甲烷溶解, 冰浴冷却至 5℃ 以下, 滴加 40ml 邻甲氧基苯甲酰氯, 控制滴加速度, 使内温不超过 5℃, 加毕, 继续搅拌反应 3h。室温放置过夜, 薄层层析(氯仿/乙酸乙酯/甲醇(5: 5: 1))表明反应完全。加水洗涤(20ml × 3), 碳酸钠水溶液洗 2 次, 水洗 1 次, 干燥, 浓缩, 用正丙醇重结晶得 52.0g, 产率 74.9%, m. p. 125-26。

¹HNMR (DMSO-d₆) (ppm) δ 0.93 (t, J=7.3Hz, 3H), δ 1.73 (q, J=7.3Hz, 2H), δ 2.77 (t, J=7.5Hz, 2H), δ 3.84 (s, 3H), δ 4.15 (s, 3H), δ 7.07 (t, J=7.5Hz, 1H), δ 7.16 (d, J=8.3Hz, 1H), δ 7.50 (t, J=7.6Hz, 1H), δ 7.61 (d, J=7.5Hz, 1H), δ

11.95 (br, 1H)。MS (FAB) 317 (M+1)。

B、5-(2-甲氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-酮

钠 2.5g 加入 75ml 无水乙醇中，钠分解完毕后，加入(A)步原料 20g，回流 4-5h，薄层层析(氯仿/甲醇(10: 1))示反应完全，浓缩除溶剂，冷却后加浓盐酸即析出固体，过滤，水洗，甲醇重结晶得 15.8g，产率 83.8%，m. p. 140-141℃，MS (FAB) 299 (M+1)。

C、5-(2-甲氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮

参考例 1 步骤 C 合成。m. p. 160-61℃。MS (FAB) 315 (M+1)。¹HNMR (DMSO-d₆) (ppm), δ 0.93 (t, 3H), δ 1.74 (m, 2H), δ 2.8 (t, 2H), δ 3.87 (s, 3H), δ 4.44 (s, 3H), δ 7.10 (t, 1H), δ 7.20 (d, 1H), δ 7.54 (t, 1H), δ 7.68 (d, 1H), δ 13.38 (s, 1H)。

D、5-(5-氯磺酰基-2-甲氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮

在 100ml 三颈圆底烧瓶中，电磁搅拌加入 20ml 氯磺酸，冰浴冷却至 10℃，分批加入 5.0g (C) 步产物，控制加入速度，使内温不超过 25℃，加毕，室温反应一晚上，次日加 10ml SOCl₂，继续反应 8h，小心将反应混合物滴入至碎冰中即有黄色固体生成。氯仿萃取，水洗(40ml × 2)，干燥(MgSO₄)，浓缩得 5.5g，产率 83.8%，产物未经纯化，直接用于下步反应。

E、5-[2-甲氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮(化合物(3))

顺式-2, 6-二甲基哌嗪 2.0g 溶于氯仿 5ml 中，冰浴冷却下，滴加(D)步反应产物磺酰氯 3.0g 在 5ml 氯仿溶液，反应完全后，Na₂CO₃水溶液洗涤，干燥(Na₂SO₄)，乙醇重结晶得黄色固体 2.8g，产率 78.5%。m. p. 214-215℃。¹HNMR (DMSO-d₆) (ppm), δ 0.91-0.96 (m, 9H), δ 1.72-1.83 (m, 4H), δ 2.79-2.89 (m, 4H), δ 3.53 (d, 2H), δ 3.94 (s, 3H), δ 4.44 (s, 3H), δ 7.39-7.42 (m, 1H), δ 7.87-7.89 (m, 2H)。MS (FAB) 491 (M+1)。

实施例 4、5-[2-丙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮(化合物(4))

A、4-(2-丙氧基苯甲酰胺基)-1-甲基-3-正丙基吡唑-5-甲酰胺

参考例 1 步骤 A 反应合成，m. p. 150-51℃，MS (FAB) 345 (M+1)

B、5-(2-正丙氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-酮

参考例 1 步骤 (B) 反应合成, m. p. 115 - 16°C, MS (FAB) 327 (M+1)。

C、5-(2-正丙氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮

参考例 1 步骤 (C) 反应合成, m. p. 111-112°C。MS (FAB) 343 (M+1)。¹HNMR (DMSO-d₆) (ppm), δ 0.94 (t, 3H), δ 0.999 (t, 3H), δ 1.77 (m, 4H), δ 2.83 (t, 2H), δ 4.09 (t, 2H), δ 4.44 (s, 3H), δ 7.11 (t, 1H), δ 7.20 (d, 1H), δ 7.53 (t, 1H), δ 7.81 (t, 1H), δ 13.26 (s, 1H)。

D、5-(5-氯磺酰基-2-正丙氧基苯基)-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮

参考例 1 步骤 (D) 合成

E、5-[2-丙氧基-5-(顺式-3, 5-二甲基哌嗪-1-磺酰基)苯基]-1-甲基-3-正丙基-1, 6-二氢-7H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-硫酮 (化合物 (4))

2.0g 顺式-2, 6-二甲基哌嗪溶于 5ml 氯仿中, 冰浴冷却下, 滴加 (D) 步反应产物磺酰氯 3.5g, 在 5ml 氯仿溶液, 反应完全后, Na₂CO₃ 水溶液洗涤, 干燥 (Na₂SO₄), 乙醇重结晶得黄色固体 3.2g, 产率 76.8%。m. p. 222-226°C。 ¹HNMR (DMSO-d₆) (ppm), δ 0.89-0.99 (m, 12H), δ 1.71-1.83 (m, 6H), δ 2.80-2.84 (m, 4H), δ 3.51 (d, 2H), δ 4.15 (t, 2H), δ 4.45 (s, 3H), δ 7.39 (d, 1H), δ 7.85 (dd, 1H), δ 7.95 (d, 1H)。MS (FAB) 519 (M+1)。

实施例 5、式 (I) 化合物药效学试验:

试验 1. 式 (I) 化合物对去睾九大鼠壮阳试验

试验方法: 取健康雄性大 wistar 大鼠 40 只, 体重 230-250g, 用戊巴比妥钠麻醉, 将睾丸挤入气囊内, 消毒, 用手术刀割口, 分别取出睾丸和副睾并结扎, 缝合伤口, 10 万/只青霉素连续 3 天, 饲养 1 周后用于实验研究。动物可重复应用, 两次试验间隔时间为一周。大鼠口服化合物 (1) 40mg/kg、20mg/kg; 化合物 (2) 40mg/kg、20mg/kg; 化合物 (3) 40mg/kg、20mg/kg; 化合物 (4) 40mg/kg、20mg/kg; 阳性对照药西地那非 50mg/kg 及对照组 (1%羧甲基纤维素钠) 后 35min, 用日本光电 SEN-3201 刺激器刺激去睾大鼠阴茎, 刺激电压 10V, 间隔时间 (T1) 250msec, 延期时间 (T2) 10msec, 持续时间 (T3) 500μsec, 刺激序列 (n) 25, 同时用三道秒表计时阴茎勃起潜伏期 (sec) 和阴茎肿胀时间 (min)。

试验结果: 化合物 (1)、化合物 (2)、化合物 (3)、化合物 (4) 四个化合物均有明显

的缩短去睾大鼠阴茎勃起潜伏期的时间 ($P<0.001$), 延长去睾大鼠阴茎肿胀时间, 其中化合物 (1)、化合物 (2) 两个化合物效果更为明显 ($P<0.001$), 且有明显的量效关系, 其阴茎肿胀时间较阳性对照药西地那非更为明显。表 1。

表 1 式 (I) 化合物对去睾大鼠电刺激阴茎勃起潜伏期和肿胀时间的影响

化合物	给药剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	潜伏期 (秒)	肿胀时间 (秒)
对照组	--	8	53.0±8.7	78±16.4
化合物 (1)	20	8	28.8±1.7 ^{***}	1305.1±588.8 ^{***}
化合物 (1)	40	8	29.5±4.2 ^{***}	2943.1±552.9 ^{***}
化合物 (2)	10	8	29.5±4.2 ^{***}	1069.8±621.5 ^{***}
化合物 (2)	20	8	29.5±4.2 ^{***}	1480.5±469.7 ^{***}
化合物 (2)	40	8	30.1±3.9 ^{***}	2675.5±769.2 ^{***}
化合物 (3)	20	8	32.8±4.4 ^{***}	551.8±350.8 [*]
化合物 (3)	40	8	30.4±2.6 ^{***}	809.6±247.5 ^{**}
化合物 (4)	20	8	31.8±3.1 ^{***}	304.5±174.1 ^{**}
化合物 (4)	20	8	31.9±4.5 ^{***}	829.9±550.2
西地那非	50	8	28.9±1.7 ^{***}	2272.5±326.2 ^{***}

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 与对照组比, ^{*} $P<0.05$, 与西地那非比。

试验 2. 化合物 (2) 对去睾大鼠壮阳持续时间试验

试验方法: 取去睾雄性大 wistar 大鼠 40 只, 体重 240-270g。大鼠口服化合物 (2) 40mg/kg、20mg/kg、10mg/kg, 阳性对照药西地那非 50mg/kg 及对照组 (1%羧甲基纤维素钠) 后 1h、3h、6、24h, 用日本光电 SEN-3201 刺激器刺激去睾大鼠阴茎, 刺激电压 10V, 间隔时间 (T1) 250msec, 延期时间 (T2) 10msec, 持续时间 (T3) 500 μ sec, 刺激序列 (n) 25, 同时用三道秒表计时阴茎勃起潜伏期 (sec) 和阴茎肿胀时间 (min)。

试验结果: 化合物 (2) 40mg/kg、20mg/kg 使去睾大鼠阴茎肿胀时间持续到 24 小时, 且有明显的量效关系, 明显高于阳性对照药西地那非, 阳性对照药西地那非持续 1 小时左右, 药后 3 小时阴茎肿胀时间比对照组时间短。表 2。

表 2 化合物 (2) 对去睾大鼠壮阳持续时间的影响

组别	剂量 mg/kg	阴茎肿胀持续时间 (秒)				
		药前值	药后 1h	药后 3h	药后 6h	药后 24h
对照组		77.6±28.2	78.0±16.4	63.6±20.6	78.1±49.4	66.0±16.8
化合物 (2)	10	57.7±12.3	679.6±513.2 ^{***}	544.7±166.9 ^{***}	268.7±146.2 ^{***}	98.6±57.9
化合物 (2)	20	32.4±26.6	1514.8±258.9 ^{***}	906.0±406.7 ^{***}	275.8±154.2 ^{***}	201.0±85.7 ^{**}

化合物(2)	40	84.0 ± 18.4	2187.1 ± 547.8 ^{***}	783.0 ± 329.2 ^{***}	678.7 ± 221.8 ^{***}	194.0 ± 65.1 ^{**}
西地那非	50	62.8 ± 7.7	1067.0 ± 204.5 ^{***}	44.0 ± 11.3 ^{***}	38.8 ± 5.6 ^{***}	61.0 ± 8.7 ^{**}

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, 与对照组比, ^{***}P<0.05, 西地那非与化合物(2)比。

试验 3. 式(I)化合物对去睾小鼠性功能的影响

试验方法: 取健康 KM 雄性小鼠 40 只, 体重 28-32g, 雌性小鼠 40 只, 体重 24-28g。雄性小鼠用戊巴比妥钠麻醉, 将睾丸挤入包囊内, 消毒, 用手术刀割口, 分别取出睾丸和副睾并结扎, 10 万/只青霉素连续 3 天, 饲养 1 周后用于实验研究, 动物可反复应用, 两次实验间隔时间为 72h。小鼠口服化合物(1)、化合物(2)、化合物(3)、化合物(4)剂量为 80mg/kg、40mg/kg, 阳性对照药西地那非 80mg/kg 及对照组 (1%羧甲基纤维素钠) 后 30min, 将给药的去睾小鼠放入雌性小鼠笼内, 雌雄比例为 1: 1, 每个笼内放 3 雄 3 雌, 观察药后 2h 内雄性小鼠对雌性小鼠的爬背次数及发生率。表 3。

试验结果: 口服化合物(2) 40mg/kg、80mg/kg, 和对照药西地那非 80mg/kg 后 2h 内, 雄性小鼠对雌性小鼠的爬背次数分别为 (11 次、20 次、16 次), 爬背发生率为 (60%、80%、70%), 与对照组 (1 次、10%) 比较有非常显著的差异 (P<0.01), 其中化合物(2) 与阳性对照药西地那非相同。

表 3 式(I)化合物对去睾小鼠性功能的影响

化合物	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	爬背发生数	爬背次数	发生率 (%)
对照组		10	1	1	10
化合物(1)	80	10	4	7	40
化合物(1)	40	10	3	4	30
化合物(2)	80	10	8 ^{**}	20 ^{**}	80
化合物(2)	40	10	6 [*]	11 [*]	60
化合物(3)	80	10	3	4	30
化合物(3)	40	10	2	2	20
化合物(4)	80	10	3	5	30
化合物(4)	40	10	2	3	20
西地那非	80	10	6 [*]	16 ^{**}	70

*P<0.05, **P<0.01, 与对照组比。

试验 4. 式(I)化合物对麻醉犬血压、心率和呼吸的影响

试验方法: 取健康犬 8 只, 体重 12-15kg, 雄性。用戊巴比妥钠 30mg/kg iv 麻醉, 分离股动脉并插入血压换能器, 记录血压; 四肢入电极记录心电, 胸部安装捆带式呼吸

带记录呼吸，仪器为日本光电 RM-6000 型多导生理记录仪，观察麻醉犬经 14 号导管将受试化合物导入胃内后 3 小时内动脉血压、心率和呼吸的变化。

试验结果：口服化合物(1)、化合物(2)、化合物(3)、化合物(4) 40mg/kg 后 3 小时内，式(I)化合物对犬动脉血压(收缩压、舒张压)、心率、呼吸(呼吸频率和呼吸深度)均无明显的影响。阳性对照药西地那非 40mg/kg 有明显的降压作用，主要使动物舒张血压降低。

实施例 6、式(I)化合物初步急性毒性试验

试验方法：应用 Bliss 法，初步对式(I)化合物雄性小鼠口服灌胃给药的半数致死量 LD_{50} 结果是：化合物(1)的 $LD_{50} > 3000\text{mg/kg}$ ，95%可信限是 $> 2500-3000\text{g/kg}$ ；化合物(2)的 $LD_{50} > 3000\text{mg/kg}$ ，95%可信限是 $> 3000\text{g/kg}$ mg/kg；化合物(3)的 LD_{50} 是 2500mg/kg ，95%可信限是 $2500-3000\text{mg/kg}$ ，化合物(4)的 $LD_{50} > 3000\text{mg/kg}$ ，95%可信限是 $> 3000\text{mg/kg}$ 。文献<<中国临床药理学与治疗学杂志>>，1999，4(3)：237-240 报道，西地那非 LD_{50} 是 635mg/kg ，95%可信限是 $50-672\text{mg/kg}$ 。

结果表明：式(I)化合物毒性很小，化合物(2)的 LD_{50} 是大于 3000mg/kg ，明显低于对照药西地那非。